UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 N° 94

Recherche des anticorps hétérophiles

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE de la RÉACTION DE MOLONEY

THESE

Pour le Doctorat en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement en octobre 1951

PAR

JACQUES BONNEVIE

Diplômé d'Hygiène, de Sérologie, de Microbiologie
Lauréat de la Faculté

Membres du Jury

MM.	ANDRIEU	*Président*
	GADRAT	*Assesseurs*
	LAPORTE	
	ENJALBERT	
	BAZEX	*Suppléant*

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1951

Contribution à l'étude de la Réaction de Moloney

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 N° 94

Recherche des anticorps hétérophiles

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE de la RÉACTION DE MOLONEY

THESE

Pour le Doctorat en Médecine

(DIPLOME D'ETAT)

Présentée et soutenue publiquement en octobre 1951

PAR

JACQUES BONNEVIE

Diplômé d'Hygiène, de Sérologie, de Microbiologie
Lauréat de la Faculté

Membres du Jury

MM.	ANDRIEU	*Président*
	GADRAT	*Assesseurs*
	LAPORTE	
	ENJALBERT	
	BAZEX	*Suppléant*

TOULOUSE
IMPRIMERIE DU VIGUIER
6, rue Ninau, 6

1951

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN	MM. LEFEBVRE.
ASSESSEUR	BRUSTIER.
Doyens honoraires	GORSE, CALVET.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. RISPAL. MM. MÉRIEL. MM. GARIPUY.
LAFFORGUE. CLERMONT. RIBAUT.
SERR. VALLOIS.

PROFESSEURS

Clinique de neurologie et de psychiatrie	MM. RISER.
Clinique médicale	TAPIE N.
Clinique obstétricale	GUILHEM.
Physiosologie	SOULA.
Clinique chirurgicale et du Cancer	DUCUING.
Physique biologique et médicale	BUGNARD.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	NANTA.
Chimie et Toxicologie	BRUSTIER.
Pathologie générale et médecine expérimentale	SENDRAIL.
Clinique chirurgicale et gynécologie	LEFEBVRE.
Anatomie	LAZORTHES.
Histoire naturelle	DELAS.
Clinique médicale infantile et puériculture	SOREL (R.).
Pharmacie	CAUJOLLE.
Pathologie interne et Clinique des Maladies de la Tuberculose	MOREL.
Bactériologie, hygiène, médecine sociale	ANDRIEU.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	VIRENQUE.
Clinique des maladies des voies urinaires	FABRE (P.).
Matière médicale	VINCENT.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	MÉRIEL (P.)
Anatomie pathologique	FABRE (J.).
Clinique O.R.L. et de chirurgie maxillo-faciale	CALVET.
Clinique ophtalmologique	CALMETTES.
Chimie biologique	VALDIGUIÉ (P.).
Médecine légale et du Travail	PLANQUES.
Histologie et Embryologie	BROUSSY.
Médecine Sociale	BOUNHOURE.
Thérapeutique	GADRAT.
Pathologie Chirurgicale	GRIMOUD.
Stomatologie	CADENAT.
Professeur à titre personnel	BAISSET.
Chimie pharmaceutique	BLANC. (ch. de f.)

PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie	MM. COULOUMA.

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

Anatomie	MM. POULHÈS.
Histologie	BIMES.
Sciences naturelles	BOUISSET
Pharmacie	COUTURIER.
Botanique	Mme DULUCQ-MATHOU
Bactériologie	Mme ENJALBERT.
Chimie Biologique	MM. POLONOVSKI.
Physique médicale	AUVERGNAT.

AGRÉGÉS

Médecine	MM. DARNAUD.
	GÉRAUD.
	DARDENNE.
	LAPORTE (J.).
	BAUDOT.
Ophtalmologie	DÉODATI.
Physique médicale	MARQUÈS.
Obstétrique	PONTONNIER.
Chirurgie	RIEUNAU.
	DIEULAFÉ.
	DAMBRIN (P.).
Oto-Rhino-Laryngologie	CLAUX.
Urologie	LHEZ.

COURS COMPLÉMENTAIRES

Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes	MM. GUILHEM.
Chimie biologique	DOUSTE-BLAZY.
Chimie pathologique	VALDIGUIÉ (P.).
Chimie minérale	BLANC.
Physique pharmaceutique	AUVERGNAT.
Dermatologie et Syphiligraphie	BAZEX.
Législation pharmaceutique.	BOUISSET.
Tuberculose	MOREL.
Chirurgie pulmonaire	DAMBRIN (P.).
Parasitologie	BAUDOT.
Cryptogamie	MM. DULUCQ-MATHOU
Chimie analytique	MM. BLANC.
Hydrologie et géologie	ASTRE.
Anatomie médico-chirurgicale	THOMAS.
Pharmacodynamie (Méd.)	BAISSET.
Pharmacodynamie (Pharm.).	CAUJOLLE.
Bactériologie et Hygiène	LAPORTE.
Ophtalmologie	DÉODATI.
Neuro-chirurgie	LAZORTHES.
Mycologie	MORQUIER.
Physiologie	LAPORTE Y.
Psychiatrie	GAYRAL.
Urologie	LHEZ.
Histologie	PLANEL.

Secrétaire de la Faculté ARGILAS.

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats.
(Délibération en date du 12 mai 1891)

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MEMOIRE DE MA SŒUR

Trop tôt ravie à notre affection.

A MES PARENTS

Avec ma profonde gratitude pour tout ce qu'ils ont fait pour moi. Puisse leur vie, toute de droiture, me servir toujours d'exemple.

A MA FEMME

Qui m'a précieusement secondé dans mon travail.
En témoignage de notre amour.

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A TOUS MES AMIS

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur ANDRIEU

Professeur de bactériologie, d'hygiène
et de médecine sociale
Chevalier de la Légion d'honneur

Qui nous a guidé dans nos études et qui nous a fait l'honneur de présider notre thèse.

Il nous a accueilli avec une grande bienveillance dans son laboratoire.

Qu'il reçoive ici l'expression de notre admiration et de notre profond respect.

A NOTRE JURY DE THESE

Madame ENJALBERT

Professeur agrégé de bactériologie

Dont l'aide précieuse nous a permis de réaliser cette thèse.

Avec notre profonde reconnaissance pour la compréhension et les encouragements que nous avons toujours trouvés auprès d'elle.

Monsieur le Professeur GADRAT

Professeur de thérapeutique

Avec nos remerciements pour avoir accepté de juger cette thèse.

Monsieur le Professeur LAPORTE

Professeur agrégé

Pour toute la bienveillante sympathie qu'il nous a toujours témoignée.

Monsieur le Docteur BAZEX

Chargé de cours de dermatologie et de syphiligraphie

A Monsieur le Professeur TAPIE

Professeur de clinique médicale
Officier de la Légion d'honneur

Qui restera pour nous l'exemple de la bienveillance et de la compétence.

Qu'il veuille trouver dans ce travail l'expression de toute notre respectueuse gratitude.

Introduction

Les réactions sérologiques en tubes destinées à dépister, à doser et à identifier qualitativement les anticorps hétérophiles dans la mononucléose infectieuse ou adénolymphoïdite aiguë bénigne sont très nombreuses et de valeur identique.

Notre but n'est donc pas de proposer une autre méthode en tubes mais de faire connaître une réaction sur lame: la réaction de Moloney. *Sa simplicité et sa vitesse d'exécution (réaction et lecture en une minute) sont telles qu'elles arrivent à faire douter de sa valeur. Notre thèse s'applique à la prouver par des statistiques.*

Après avoir rappelé dans un premier chapitre les caractéristiques cliniques et hématologiques de la mononucléose infectieuse et montré leurs défaillances fréquentes, nous établissons dans un second chapitre un bref historique de la découverte des anticorps hétérophiles et de leur taux élevé dans cette affection.

Cette découverte amena l'élaboration de multiples réactions sérologiques en tubes pour la recherche de ces anticorps, réactions dont nous donnons le principe et que nous énumérons par ordre chronologique.

Dans le troisième chapitre nous décrivons enfin deux réactions sur lames: celle de Butt *et* Foord 1935 *et celle de* Strauss 1936 *qui ont ouvert la voie aux techniques sur lames modernes de* Rappaport *et* Skariton *et de* Moloney *datant toutes deux de* 1949.

Le dernier chapitre traitera particulièrement de la réaction de Moloney. *Et nous donnons alors trois statistiques portant sur* 2.251 *sérums examinés par la réaction sur lame de* Moloney *et essayerons d'en tirer des conclusions qui établissent la valeur de cette réaction.*

CHAPITRE PREMIER

Caractéristiques cliniques et hématologiques de la Mononucléose infectieuse

Bien que jusqu'à ce jour l'agent infectieux déterminant la mononucléose infectieuse ne soit pas identifié, celle-ci cependant semble bien être une entité morbide séparée des autres fièvres avec mononucléose. En effet, trop de constatations cliniques, hématologiques et surtout sérologiques l'isolent des autres adénolymphoïdites aiguës.

Mais la clinique à elle seule ne permet de l'identifier que dans ses formes les plus typiques comprenant tous les grands signes classiques de la mononucléose infectieuse:

1) *L'angine* qui peut revêtir tous les aspects, n'ayant aucune physionomie spécifique avec peut-être cependant plus souvent des lésions ulcéreuses rappelant l'angine de VINCENT, ou encore des exsudats pseudo-

memrbaneux plus ou moins dissociables et pouvant alors évoquer une angine diphtérique.

2) Les *adénopathies* le plus souvent localisées à la région cervicale et sous-maxillaire mais pouvant être généralisées. Parfois, c'est l'inspection qui les révèle, parfois ce n'est que la palpation qui arrive à les mettre en évidence souvent en déclanchant une douleur et cette palpation décèle des ganglions fermes avec sensation de résistance élastique mais bien isolés les uns des autres sans périadénite.

3) La *rate* est augmentée de volume et douloureuse au palper dans la plupart des cas, mais cette splénomégalie est rarement volumineuse.

4) La *fièvre* est pratiquement constante. Elle s'installe le plus souvent à bas bruit, rarement brutalement. Elle atteint 39° en trois ou quatre jours et ce qui est plus caractéristique se maintient plusieurs jours à ce niveau. Cette persistance de la fièvre au cours même d'une angine, alors qu'elle n'est pas phlegmoneuse, doit éveiller le soupçon d'une mononucléose infectieuse.

5) Enfin, les *signes généraux* sont très variés, allant de la céphalée à la rachialgie et aux troubes digestifs, mais un signe domine souvent c'est l'asthénie plus ou moins marquée mais rarement absente et qui même après guérison laisse souvent les malades fatigués et las pour plusieurs mois (n° 1).

Dans les cas où tous ces signes: angine, adénopathies, splénomégalie, fièvre, asthénie, sont rassemblés, le diagnostic ne souffre évidemment que peu d'erreurs, mais les cas si typiques sont souvent plus livresques que réels et dans la majorité des cas, le médecin se trouvera en face de formes à symptomatologie plus ou moins trompeuse.

Parfois, c'est la discrétion ou l'absence d'un symp-

tôme qui égarent le diagnostic. Ainsi, l'angine peut passer inaperçue ou, au contraire, prendre un aspect très grave. Les adénopathies peuvent être énormes ou avec périadénite.

Parfois, ce sont des signes atypiques qui induisent en erreur comme un ictère, des troubles digestifs intenses pouvant simuler la fièvre typhoïde, des états méningés aigus, des localisations pulmonaires, des formes hémorragiques avec pétéchies, hémorragies intestinales, purpura, gingivorragies.

Parfois enfin, le médecin ne se trouve en présence que de signes très frustes, parfois même de formes inapparentes de la maladie (n° 2).

C'est dans ces formes évidemment que les examens de laboratoire vont être d'une très grande utilité.

L'*hématologiste*, d'abord, apporte souvent confirmation au médecin hésitant ou l'oriente si son diagnostic n'était pas établi.

L'hématologie a été pendant longtemps le seul critère de la maladie avant les tests sérologiques.

Les perturbations observées concernent surtout la série blanche qui est modifiée quantitativement et qualitativement.

On observe une *hyperleucocytose* le plus souvent modérée à 10.000-20.000.

A la formule sanguine, on constate une diminution des polynucléaires et une augmentation importante des *mononucléaires.*

A la période d'état de la maladie, le taux des mononucléaires (lymphocytes et moyens mononucléaires) dépasse pratiquement toujours 50 % et souvent même est beaucoup plus accentué.

Mais les mononucléaires ne sont pas seulement modifiés dans leur taux, ils le sont également dans leur structure (chromatine, protoplasme, parfois même apparition de nucléoles).

Certains de ces *mononucléaires atypiques*, colorés par le May-Grünwald-Giemsa, à chromatine plus déliée, à protoplasme moins homogène et plus grisâtre, ont longtemps été confondus avec des monocytes d'où le nom « d'angine à monocyte » que l'on donnait à la mononucléose infectieuse.

D'autres mononucléaires ont un protoplasma très basophile avec un halo clair périnucléaire évoquant l'aspect de cellules de Turk ou de plasmocytes. Ces cellules ont été considérées par les auteurs anglo-saxons comme spécifiques de la mononucléose infectieuse. S'il est exagéré de les prétendre spécifiques, leur constatation au cours d'une angine avec fièvre et ganglions apporte une probabilité encore plus grande (n° 14).

Enfin, l'on peut trouver parfois des cellules nucléolées très difficiles à différencier des leucoblastes. L'examen hématologique alors au lieu d'établir le diagnostic différentiel avec la leucémie aiguë l'oriente dans ce sens et des pronostics trop sombres peuvent être portés. Ainsi, devant des signes cliniques évoquant la leucémie aiguë et la constatation de cellules atypiques sur la lame sanguine dont certaines nucléolées, on comprend que des erreurs avec la leucémie aiguë aient pu être commises. C'est ainsi que l'on a pu décrire des formes pseudo-leucémiques de la mononucléose infectieuse (n° 3 et n° 15).

On voit donc que si l'hématologie vient souvent apporter une aide précieuse au diagnostic, cette aide est assez rarement décisive et parfois même égare le diagnostic au lieu de l'orienter ou de le rendre très probable.

Ces faits montrent bien que le diagnostic de la mononucléose infectieuse est resté le plus souvent indécis jusqu'à la découverte des anticorps hétérophiles et de leur taux supérieur à la normale dans cette affection.

Partant de ces constatations, on a établi des tests

sérologiques qui, à l'heure actuelle, sont à la base du diagnostic. Leur valeur est telle qu'un séro-diagnostic négatif doit faire remettre en question un diagnostic de mononucléose infectieuse établi cliniquement.

CHAPITRE II

Historique de la découverte des anticorps hétérophiles et principales réactions en tubes qui en découlèrent

Friedberger et Hartoch, en 1909, avaient constaté ce fait inattendu que l'injection intraveineuse de sérum de lapin immunisé contre les globules rouges de mouton ou de chèvre provoque chez le cobaye des accidents graves d'allure anaphylactique et ceci avec une fraction de cc seulement.

Ce fait est d'autant plus singulier que ce sérum ne lyse pas sensiblement les globules rouges du cobaye.

Or, sa toxicité disparaît lorsqu'on le dépouille de sa sensibilisatrice spécifique par contact avec les globules de chèvre ou de mouton, tandis qu'elle persiste lorsqu'on le mélange avec des globules de cobaye, lesquels ne s'emparent pas de cette sensibilisatrice. (Friedberger et Castelli-Doer et Moldovan).

En somme, on aboutit à cette constatation qu'une sensibilisatrice incapable de réagir avec les globules de cobaye, empoisonne néanmoins cet animal.

Par contre, d'autres sensibilisatrices hémolytiques provenant également du lapin, par exemple celle que contient le sérum de lapin immunisé contre les globules de bœuf, ne sont pas toxiques pour le cobaye.

On ne pouvait expliquer ces faits lorsque le sérologiste suédois Forssman, en 1911, découvrit qu'en injectant au lapin des tissus de différentes espèces animales, on obtenait un sérum ayant un pouvoir hémolytique pour les hématies de mouton.

Ainsi, des hématies ayant une fonction antigénique définie peuvent être lysées non seulement par le sérum préparé en injectant au lapin ces hématies mais encore par l'injection d'autres substances telles que le rein de cobaye, qui n'ont aucun rapport apparent avec l'antigène considéré.

Donc, dans ces différents tissus: rein, rate, foie et testicule de cobaye, rein et rate de cheval, rein de la poule, existe un facteur antigénique commun, identique à celui des globules de mouton. Il est caractérisé par une spécificité de groupe que l'on rattache au type cobaye.

Mais, étant donné que son action hémolytique n'a pas de rapport avec la structure des tissus dont il est extrait, on l'appelle l' « antigène hétérogène » et on appelle « hétérophile » l'anticorps auquel il a donné naissance (n° 5).

Cet anticorps réagit in vitro non seulement avec les globules de mouton mais aussi avec les extraits des différents organes renfermant l'antigène Forssman. Il ne réagit pas avec les extraits d'organes d'autres animaux comme le lapin, le bœuf, le porc, le rat, etc..., qui ne contiennent pas l'antigène de Forssman et qui forment un groupe différent rattaché au type lapin.

Désormais, on comprend pourquoi le cobaye a été empoisonné par le sérum du lapin immunisé contre les globules rouges de mouton, alors qu'il n'est pas gêné par les sérums de lapins immunisés contre les globules rouges de bœuf qui ne contiennent pas l'antigène de Forssman et qui, par conséquent, ne suscitent pas l'élaboration d'anticorps hétérophiles (n° 4).

Ces constatations n'eurent longtemps que des applications doctrinales ouvrant de nouvelles voies dans le domaine de l'immunologie jusqu'à ce qu'HANGANATZU constate en exécutant des réactions de Bordet-Wassermann que certains sérums lysent et agglutinent les hématies de mouton à des taux élevés et que ces sérums proviennent de sujets ayant reçu des injections thérapeutiques de sérum de cheval.

Ces faits furent confirmés par DEICHER, puis LESNE et WAITZ. DAVIDSOHN fait les mêmes constatations en étudiant le sérum de sujets ayant reçu des injections thérapeutiques de sérum mais note également que l'agglutination et l'hémolyse sont beaucoup plus marquées accidents sériques.

Ces faits n'existent qu'après injection de sérum de cheval (qui contient l'antigène de FORSSMAN) et non après l'injection de sérum de bœuf (qui est dénué d'antigène de FORSSMAN).

Ensuite, PAUL et BUNNELL, en 1932, alors qu'ils recherchaient les anticorps de FORSSMAN au cours du rhumatisme articulaire aigu en raison de son analogie avec la maladie du sérum, découvrent, par hasard semble-t-il, des taux très élevés d'anticorps hétérophiles chez un sujet de leur série de contrôle atteint de mononucléose infectieuse.

Ils confirmèrent cette découverte en décelant avec persistance des titres élevés de ces anticorps hétérophiles

dans trois autres cas de mononucléose infectieuse et ils firent part de leurs résultats en 1932.

Par la suite, ils corroborèrent ces faits avec quinze autres cas de mononucléose infectieuse.

D'ailleurs, des constatations identiques furent effectuées par BERNSTEIN, SPRUNT, ROSENTHAL, WENKEBACK et OLESEN.

La sensibilité de cette réaction étant établie, sa spécificité le fut aussi grâce à 275 cas de contrôle par PAUL et BUNNELL et à 300 cas de contrôle par BERNSTEIN.

Mais cette propriété ne pouvait suffire à elle seule à identifier la mononucléose infectieuse, car dans les maladies du sérum et plus rarement au cours de diverses infections, les anticorps de FORSSMAN sont également trouvés à des taux élevés.

Mais en 1936 BAILEY et RAFFEL, ainsi que DAVIDSOHN, démontrèrent que les agglutinines anti-mouton des sujets atteints de mononucléose infectieuse n'étaient pas absorbés par les extraits de rein de cobaye (comme ce fait existe chez les malades ayant été traités par des injections de sérum de cheval ou même chez certains malades en dehors de toute sérothérapie).

Cette propriété fut confirmée par STUART.

On y adjoignit ce fait que les extraits de bœuf absorbent ces mêmes agglutinines anti-mouton produites par la mononucléose infectieuse contrairement à ce qui existe dans les sérums venant de maladies du sérum.

Ainsi, pouvait s'ébaucher une technique sérologique précise permettant de délimiter nettement la mononucléose infectieuse et de la séparer des maladies du sérum et d'autres infections plus rares au cours desquelles les anticorps de FORSSMAN sont trouvés à des taux élevés.

En effet, dans la mononucléose infectieuse, le pouvoir agglutinant du sérum est considérablement augmenté mais son accroissement résulte non pas de l'exaltation de l'agglutinine de FORSSMAN mais de la formation d'une agglutinine nouvelle qui n'est pas un anticorps de FORSSMAN.

Elle ne sera pas absorbée par l'antigène de FORSSMAN qui est un extrait aqueux de rein de cobaye, mais par un autre antigène: l'extrait de globules rouges de bœuf.

Les techniques actuelles de séro-diagnostic de la mononucléose infectieuse comportent donc deux épreuves:

1) Une épreuve quantitative qui mesure le pouvoir agglutinant total du sérum (soit anticorps de type FORSSMAN, soit agglutinines nouvelles caractérisant la mononucléose infectieuse).

2) Une épreuve qualitative grâce à laquelle on identifie l'agglutinine de la mononucléose infectieuse. Pour cela, on fait une double expérience d'absorption: l'une avec un extrait de rein de cobaye (antigène de FORSSMAN), l'autre avec un extrait de globules rouges de bœuf.

D'où de multiples techniques en tubes de séro-diagnostic de la mononucléose infectieuse qui progressivement se sont simplifiées en diminuant le nombre de tubes et la durée de la réaction et ont été rendues plus spécifiques grâce aux épreuves qualitatives.

Il y eut d'abord la technique de PAUL et BUNNELL qui n'était que quantitative et qui, par conséquent, était positive également dans les maladies du sérum et dans certaines autres infections.

Ils employaient:

1) du sérum de malade inactivé qu'ils diluaient de 1/2 à 1/64 ou plus;

2) des hématies de mouton lavées, à 2 % en suspension salée physiologique.

La réaction durait 13 heures (1 heure au bain-marie à 37° puis 12 heures à la glacière).

Les résultats sont lus en tenant compte du degré d'agglutination et notés 4 + 3 + 2 + 1 + et —.

Puis DAVIDSOHN décrit un procédé modifié, considérablement plus rapide, dans lequel il emploie:

1) des dilutions du sérum allant de 1/25 à 1/5120;

2) des hématies de mouton en suspension à 2% dans une solution physiologique salée.

La réaction durait 2 heures (1 heure au bain-marie à 37° et 1 heure à la glacière).

Les résultats sont lus à travers le tube avec le faible grossissement du microscope. Cette réaction, affirme-t-il, est plus sensible que la précédente. Elle est évidemment positive dans les cas de maladie du sérum (n °6).

Enfin, diverses méthodes sont successivement proposées comportant l'épreuve quantitative et l'épreuve qualitative, en particulier par DAVIDSOHN en 1938 aux Etats-Unis, par DURUPT qui fit connaître la méthode américaine en France où elle fut surtout utilisée et perfectionnée par DEMANCHE puis par SOHIER.

Enfin, plus récemment, STUART a proposé une méthode plus rapide par centrifugation, étant donné la rapidité accrue de l'agglutination des hématies au cours de la centrifugation.

Il fait des dilutions de sérum de 1/10 à 1/10.240. Puis les place au bain-marie à 37°, 5 à 10 minutes. Enfin, il centrifuge 1 à 2 minutes à 2.000 tours-minute. La lecture se fait immédiatement après en secouant légèrement les tubiers.

Cette réaction réalise une grande économie de temps (n° 7).

Ces techniques modernes sont, à quelques détails près, identiques.

Elles comportent plus ou moins de tubes selon les auteurs et le taux de dilution établi:

12 tubes dans la réaction de DEMANCHE;
11 tubes dans la réaction de STUART;
9 tubes dans la réaction de SOHIER;
3 tubes dans la réaction de PAUL.

Elles comportent aussi une lecture différente selon les auteurs:

lecture à l'œil nu pour STUART;

lecture au miroir concave comme pour une réaction de Kahn pour DEMANCHE et SOHIER.

Toutes ces techniques comportent trois rangées de tubes:

1) Une rangée quantitative (A);
2) Une rangée avec le sérum + du rein de cobaye (C);
3) Une rangée avec le sérum + des hématies de bœuf (B).

Chacune des rangées comprend une dilution variable de sérum dans l'eau physiologique et des hématies de mouton. Mais, en plus, dans la seconde rangée, le sérum a auparavant été mis en contact avec l'extrait de rein de cobaye (qui absorbera les antigènes de FORSSMAN) et dans la troisième rangée avec les hématies de bœuf (qui absorberont les antigènes propres à la mononucléose infectieuse).

Une réaction négative s'inscrira donc par exemple:

A) 4-3-2-1-0-0-0-0-0
C) 0-0-0-0-0-0-0-0-0
B) 0-0-0-0-0-0-0-0-0

Une réaction lors de la maladie du sérum:

A) 4-4-4-3-3-2-2-1-1
C) 0-0-0-0-0-0-0-0-0
B) 0-0-0-0-0-0-0-0-0

ou encore:

A) 4-4-3-3-2-1-0-0-0
C) 0-0-0-0-0-0-0-0-0
B) 4-3-2-1-0-0-0-0-0

L'on a donc une augmentation globale des agglutinines mais non confirmée après les épreuves d'absorption. (Les agglutinines sont absorbées par le rein de cobaye, donc sont de type FORSSMAN).

Une réaction typique lors de la mononucléose infectieuse:

A) 4-3-3-2-2-1-1-0-0
C) 3-3-2-2-1-1-0-0-0
B) 0-0-0-0-0-0-0-0-0

Ici aussi l'on a donc une augmentation globale des agglutinines mais ces agglutinines ne sont pas absorbées par le rein de cobaye mais par les hématies de bœuf. Ce ne sont donc pas des agglutinines de type FORSSMAN mais des agglutinines propres à la mononucléose infectieuse.

La réaction devient positive généralement six jours après le début des symptômes ce qui, en fait, revient à dire que la plupart du temps elle est positive au moment où le médecin est appelé, le malade ne s'alarmant pas pour une affection le plus souvent bénigne.

Puis rapidement le taux des anticorps passe par un maximum pour décroître ensuite plus ou moins lentement. La réaction devenant négative du 80^{me} au 296^{me} jour pour DAVIDSOHN, du 29^{me} au 115^{me} jour pour SOHIER (n° 15).

On s'accorde avec BERNSTEIN pour reconnaître qu'il n'y a pas de relation entre le taux des anticorps hétérophiles et la gravité de la maladie.

Ces réactions en tubes sont à peu près parfaitement spécifiques et possèdent une grande valeur diagnostique.

En effet, les cas de fausse positivité sont extrêmement rares et nombreuses sont les statistiques qui en font foi.

Celles de Paul et Bunnell et de Bernstein, déjà citées, avec sur 575 cas, seulement 2 fausses réactions positives et encore un cas à un titre limite et un autre ayant reçu des transfusions sanguines répétées.

Celle de Butt et Foord, en 1935, portant sur 412 malades divers et sans fausse positivité, en particulier dans les leucémies et dans deux cas d'empoisonnement alimentaire par le paratyphique B qui contient l'antigène de Forssman (n° 8).

Leur sensibilité est moins rigoureuse et elle a été trouvée en défaut dans des cas où tous les signes cliniques et hématologiques de l'affection étaient réunis (n° 16).

Il n'en est pas moins vrai que malgré les reproches que l'on peut faire à ces réactions, comme ne reposant pas sur des bases scientifiques, ce sont des réactions très sûres et qui demeurent le meilleur critérium de diagnostic de la mononucléose infectieuse.

Pour expliquer ces réactions on a invoqué: qu'il existait dans l'hématie de mouton deux fractions antigéniques: l'une qui est sinon identique tout au moins très comparable à l'antigène contenu dans le rein de cobaye; l'autre qui se rapproche des antigènes contenus dans les hématies de bœuf (n° 2).

Il est donc évident que les anticorps contre la première et la deuxième fraction provoquent l'agglutination des hématies de mouton. Mais les premiers sont absorbables par le rein de cobaye; les seconds ne sont pas absorbables par cet antigène mais par l'hématie de bœuf qui contient la deuxième fraction antigénique.

On a alors envisagé deux hypothèses:

1) L'agent pathogène de la mononucléose infectieuse et la deuxième fraction de l'hématie de mouton sont identiques ou tout au moins très proches;

2) L'agent causal de la mononucléose infectieuse provoque, au cours de la maladie, par réaction dans les tissus ou les humeurs, un complexe très proche de la deuxième fraction des hématies de mouton.

Ceci d'ailleurs a été également invoqué pour expliquer la production de la réagine syphilitique et permet de faire un rapprochement étroit entre les deux réactions qui quoique non spécifiques en théorie, le sont pratiquement.

Cependant, toutes ces réactions nécessitaient un grand nombre de tubes et étaient très longues à exécuter; aussi les auteurs ont-ils vite cherché à établir des réactions sur lames pour la recherche des anticorps hétérophiles dans la mononucléose infectieuse.

CHAPITRE III

Principales réactions sur lames pour la recherche des anticorps heterophiles

Ce fut, en effet, après l'étape de mise au point de la réaction des anticorps hétérophiles qu'apparurent lors de l'étape de simplification, les premières réactions sur lames.

Le premier essai est déjà relativement ancien et date de 1935. Il a été décrit par F.M. Butt et A.G. Foord, en Californie.

Ces auteurs indiquent qu'ils pratiquent le procédé classique de Paul et Bunnell (sans épreuve d'absorption), mais qu'ils ont ajouté à cette pratique routinière une réaction d'agglutination microscopique sur lame pour un diagnostic rapide.

Cette réaction consiste à prendre 1 anse de sérum sanguin à tester et 4 anses d'une suspension de globules

de mouton à 2 % dans une solution salée isotonique et à faire alors une préparation en goutte pendante (n° 8).

Cette réaction est aussi décrite dans un article de Strauss paru en 1936 où il précise qu'elle consiste à placer 4 anses d'une suspension de globules de mouton et 1 anse de sérum sanguin sur une lamelle et à la retourner sur une cellule à bords émerisés (n° 6).

Il se produit une agglutination presque immédiate quand on pratique la réaction sur des sérums de mononucléose infectieuse ou de maladie du sérum. Les sérums d'autres maladies sont négatifs par cette réaction sur lame bien que, par la méthode ordinaire en tubes, on puisse observer des agglutinations à des titres peu élevés, donc pas significatifs.

Dans cette réaction on employait donc du sérum inactivé, des hématies de mouton à 2 % en eau physiologique et on la lisait microscopiquement.

Les auteurs n'indiquent pas d'autres détails techniques et ne donnent pas de statistiques, mais Strauss, dans son article, déclare que la valeur de cette réaction en goutte pendante a été confirmée par sa positivité lors de 18 cas de mononucléose infectieuse confirmée.

Cette réaction est relativement simple bien que nous ne voyons pas clairement l'utilité d'une technique en goutte pendante puisque la lecture est presque immédiate et que, par conséquent, la goutte n'a pas le temps de se dessécher.

Quoiqu'il en soit et bien que la valeur de cette réaction nous soit inconnue, elle a le mérite d'avoir ouvert la voie aux techniques futures sur lames.

La réaction suivante sur lame fut décrite par Strauss, de Cleveland, en 1936 (n° 6).

Cette réaction est notablement différente de la précédente et si elle semble plus précise, elle s'est en même temps notablement compliquée.

Dans son article de 1936, STRAUSS déclare donc: « Vers la fin de la dernière année, une tentative fut faite pour simplifier encore plus et raccourcir le temps d'exécution du test de l'anticorps hétérophile en utilisant les anneaux de paraffine de GREEN sur des lames de verre de 3 × 2 semblables à celles utilisées dans le test sur lame de précipitation microscopique de la syphilis. Nous nous sommes arrêté à la technique suivante:

1) Chauffer le sérum dans un bain-marie à 56° pendant 30 minutes;

2) Faire des dilutions du sérum de 1/2 à 1/1024 ou plus, étant entendu que les dilutions dont il est question sont les dilutions initiales du sérum et ne concernent pas les dilutions suivantes par les globules;

3) Placer 3 gouttes de chaque dilution de sérum avec une pipette capillaire de WRIGHT dans chaque anneau de paraffine sur la lame;

4) Ajouter 1 goutte d'une suspension à 2 % de globules rouges de mouton lavés. Pour avoir les résultats les plus sensibles, il faut laver les hématies de mouton dans une solution salée et les laisser séjourner à la glacière pendant plusieurs jours;

5) Agiter par rotation la lame pendant 10 minutes et lire au microscope. »

On note les résultats en tenant compte du degré d'agglutination comme dans le test en tubes.

Les degrés d'agglutination, précise-t-il, peuvent être, sur lame, mieux discernés avec le microscope et les réactions faibles, plus clairement définies.

L'auteur donne à l'appui de la valeur de sa réactions 4 tableaux comprenant 45 sérums testés.

Le tableau 1 comprend des sérums normaux qui étaient au nombre de 35. Il s'agissait de maladies variées, rencontrées lors de la pratique journalière de

l'hôpital. Il y avait, par exemple, des cas d'hypertension, de rhumatisme articulaire aigu, des hernies, des ulcères variqueux, des lithiases biliaires, une grossesse, une agranulocytose, etc...

Dans la majorité de ces cas, l'agglutination sur lame n'était pas observée à des dilutions plus élevées que 1/16 (excepté pour une réaction d'une + ou moins d'une + avec une dilution de 1/32 dans un cas d'agranulocytose et un cas de pneumothorax).

Dans le tableau 2, il y a deux cas de pneumonie lobaire traités par des injections de sérum anti-pneumococcique.

Les deux cas ont été étudiés parallèlement par la réaction sur lame et par la réaction en tubes.

— Le premier cas, un enfant de 7 ans qui avait reçu 100.000 unités de sérum anti-pneumococcique, ne présenta pas une maladie du sérum et on ne mit pas en évidence d'accroissement du taux des anticorps hétérophiles ni par la réaction sur lame ni par la réaction en tubes.

— Le deuxième cas, une femme âgée de 49 ans qui reçut 120.000 unités de sérum, présenta par la suite un accroissement des agglutinines à 1/256 par la réaction en tubes alors que, par la réaction sur lame, le taux ne dépassa pas 1/32.

Le tableau 3 comprend 5 cas diagnostiqués cliniquement comme des mononucléoses infectieuses.

— Les deux premiers cas comprennent deux internes qui avaient présenté cette affection, l'un 3 ans, l'autre 1 an auparavant. Aucun des deux ne présenta à ce moment là un accroissement d'anticorps hétérophiles par la réaction sur lame.

— Les trois autres cas étaient récents et très typiques comprenant les signes cliniques majeurs, la mononu-

cléose et les lymphocytes atypiques dans la formule sanguine. Ils présentaient tous des agglutinines à des titres variant de 1/128 à 1/1024 et le test sur lame se montra aussi sensible que le Paul et Bunnell classique.

Enfin, *dans le tableau 4* nous trouvons 3 cas qui furent cliniquement diagnostiqués comme des mononucléoses infectieuses mais dont chaque cas présentait plusieurs traits atypiques.

— Le premier, un garçon âgé de 4 ans, avait présenté une longue période avec fièvre, malaise, pharyngite et adénopathies généralisées. A l'examen du sang, on trouva une leucocytose avec une mononucléose relative et absolue. Cependant, on ne trouva pas de lymphocytes atypiques.

Il présentait une hépatomégalie et une splénomégalie plus marquée que dans la mononucléose habituelle, s'étendant jusqu'à la crête iliaque.

On ne trouva à aucun moment un taux d'anticorps hétérophiles supérieur à des dilutions de 1/32 à 1/64 que ce soit par la réaction sur lame, par la réaction rapide en tubes de Davidsohn, ou par la réaction de Paul et Bunnell. Ce cas fut soigné par l'interne dont il a été question dans le tableau 3 et ce fait semblerait prouver la nature infectieuse de la maladie.

— Le second cas est celui d'un autre interne âgé de 27 ans qui, lui aussi, soigna le malade précédent, dans le service pédiatrique, lorsqu'il remplaça le premier interne tombé malade.

Il présentait de la céphalée, se plaignait de la gorge et d'un malaise généralisé. A l'examen, on trouva des lésions ulcérées dans le pharynx, des adénopathies cervicales et axillaires modérées et une rate palpable. A la numération globulaire, on décompta 10.200 leucocytes tandis que la formule présentait 18 % de polynucélaires,

77 % de cellules mononucléées et 5 % de monocytes. On ne trouva pas de lymphocytes atypiques.

Avec un traitement symptomatique il se rétablit progressivement et sortit de l'hôpital en janvier 1936.

Le titre d'agglutination, dans ce cas, alla selon les périodes de 1/16 à 1/64 seulement, mais les degrés d'agglutination étaient considérablement plus forts que normalement.

— Le troisième cas, une jeune fille de 19 ans, présentait des signes cliniques typiques et toutes les découvertes sanguines propres à la mononucléose infectieuse si ce n'est qu'elle n'avait pas de fièvre et là aussi l'accroissement du taux des agglutinines ne dépassa pas 1/32 à 1/64, que ce soit par la réaction en tubes ou par la réaction sur lame.

L'auteur déclare donc que ces trois cas doivent être considérés sérologiquement comme faiblement positifs, la réaction de Paul et Bunnell n'étant guère plus sensible que la réaction rapide en tubes de Davidsohn et la réaction sur lame.

Comme elles sont d'exécution beaucoup plus rapide que la réaction de Paul et Bunnell, leur supériorité est évidente.

Cette réaction sur lame semble donc offrir un grand effort de précision mais son exécution ne paraît pas tellement plus facile que les réactions en tubes étant donné les dilutions du sérum.

On pourrait somme toute qualifier cette réaction de *réaction quantitative sur lame*, dérivée très étroitement du Paul et Bunnell.

Ce n'est qu'en 1949 que le docteur William Moloney, de Boston, assisté de Lucy Malzone, indiqua « une réaction rapide sur lame pour la recherche des anticorps hétérophiles » qui pouvait entrer dans la

pratique courante tellement sa simplicité était grande.

Cette réaction fut aussi rapportée en 1949 par le docteur Mac Cready, de Boston, dans un rapport présenté à la conférence des directeurs des laboratoires d'Etat et de Province de la Santé Publique à New-York (congrès de la Public Health, 24 octobre 1949) (n° 9).

Cette réaction est d'une technique si simple et si différente des autres réactions sur lames que nous lui réserverons un chapitre spécial exposant sa sensibilité et sa spécificité.

Elle semble bien être la réaction d'avenir pour la pratique courante de laboratoire en vue de la recherche des anticorps hétérophiles.

A peu près à la même époque, en 1949, F. Rappaport et M. Skariton décrivirent aussi une méthode qualitative sur lame dont la technique est la suivante (n° 10):

A 1 goutte de sérum inconnu (frais ou inactivé) ajouter 1 anse d'hématies de mouton concentrées, lavées 3 ou 4 fois en eau physiologique.

Mélanger avec un agitateur.

S'il ne se produit aucune agglutination, le sérum est déclaré négatif.

Par contre, une agglutination constitue une réaction positive et demande alors une interprétation quantitative.

Les auteurs ont pratiqué sur chaque sérum trois méthodes:

— Leur réaction sur lame;

— La réaction de Paul et Bunnell;

— Une réaction quantitative rapide en tubes.

Et ont obtenu des résultats identiques.

La réaction sur lame était positive quand la réaction quantitative donnait une agglutination à 1/56.

Mais ce taux ne donne qu'une suspicion de mononucléose infectieuse. L'on n'a une certitude qu'à 1/112 d'où la nécessité de toujours confirmer une réaction positive sur lame par une réaction quantitative en tubes.

Il est nécessaire de laver les globules rouges de mouton car les globules non lavés donnent des réactions négatives avec des sérums très positifs aux réactions en tubes.

Nous verrons que les statistiques de MOLONEY, qui ne lave pas les hématies, sont en contradiction avec ces affirmations.

Ces hématies de mouton ne se conservent pas plus de cinq jours en glacière, ce qui rend difficile la pratique courante de cette réaction.

Aussi, RAPPAPORT et SKARITON indiquent-ils un procédé de conservation des hématies.

En ajoutant du borax (réactif n° 1) de pH 7,4-7,6 à des hématies de mouton défibrinées, celles-ci peuvent être gardées en glacière au moins deux mois sans hémolyse. Ce corps ne gêne pas la réaction.

Réactif n° 1 (solution de borax cristallisé):

10 grammes de borax cristallisé, les dissoudre dans 150 cc d'eau distillée et ajouter une solution d'acide citrique concentré jusqu'à pH 7,4-7,6.

Compléter le volume à 200 cc avec de l'eau.

Stériliser la solution.

Réactif n° 2 (solution de borax dilué et de ClNa):

1 partie du réactif n° 1 est mélangée à 3 parties d'eau physiologique salée à 0,9 %. On peut le stocker.

On mélange une quantité égale du réactif n° 1 et de globules rouges de mouton, frais, défibrinés.

On répartit en plusieurs petits tubes à essais que l'on garde à la glacière.

Pour l'emploi, le contenu d'un des tubes est lavé de la façon suivante: on verse dans un Erlenmeyer la

quantité d'hématies de mouton non lavées et on ajoute trois fois la même quantité du réactif n° 2 goutte à goutte en agitant doucement.

Le mélange est versé dans un tube et centrifugé.

Le liquide surnageant est enlevé à la pipette et on le remplace par 3 ou 4 volumes de réactif n° 2 (il n'est plus nécessaire d'ajouter goutte à goutte). Ce lavage doit être fait deux fois de plus.

Le premier lavage doit être fait très soigneusement car les hématies stockées en liquide hypertonique s'hémolysent facilement à un contact rapide avec un liquide isotonique.

Après le troisième lavage, le culot des globules rouges est employé pour les réactions qualitatives et quantitatives.

On peut les garder en glacière en leur ajoutant du réactif n° 2 tant qu'il n'y a pas d'hémolyse.

On ne doit pas employer ces hématies pendant plus d'une semaine.

Les auteurs fournissent un tableau comparatif montrant que les réactions effectuées soit avec des hématies de mouton fraîches en eau physiologique, soit des globules frais lavés dans le réactif n° 2 isotonique, soit des globules conservés dans le réactif n° 1 et lavés dans le réactif n° 2, donnent des résultats identiques.

En résumé, les auteurs présentent une réaction rapide d'agglutination sur lame pour la recherche des anticorps hétérophiles qui constitue une réaction de triage.

En cas de réaction positive, une méthode quantitative donne le titre d'agglutination.

Les avantages sur la méthode classique sont:

— qu'il n'est pas besoin d'inactiver le sérum;

— qu'il n'est pas nécessaire de mettre ni à l'étuve ni à la glacière ce qui réalise une grande économie de temps.

Enfin, pour faciliter encore la réaction, les auteurs indiquent un procédé de conservation des hématies de mouton dans un liquide hypertonique avec du borax, corps qui ne trouble pas la réaction et donne des agglutinations aussi fortes et aussi nettes comme le confirme le tableau présenté par ces auteurs (n° 10).

Toutes ces techniques sur lames paraissent avoir à peu de choses près, la même sensibilité et la même spécificité; aussi ne peut-on choisir la meilleure méthode que d'après la facilité et la simplicité de l'exécution.

A ce point de vue, la réaction la plus pratique est la réaction de Moloney qui emploie non pas des hématies de mouton qu'il faut laver, mais du sang total de mouton et qui utilise une lecture macroscopique beaucoup plus simple et qui à ce seul titre prend le pas sur les techniques microscopiques.

CHAPITRE IV

Réaction macroscopique sur lame de W. Moloney

La réaction sur lame de Moloney fut décrite par cet auteur en 1949. Il prouva que l'on pouvait encore simplifier les méthodes sur lames pour la recherche des anticorps hétérophiles tout en gardant la même sensibilité et la même spécificité (n° 12).

Le docteur Mac Cready s'est attaché, lui aussi, à la réaction de Moloney et après l'avoir expérimentée a confirmé de son côté sa valeur (n° 9).

La réaction fut expérimentée également en France par G. Andrieu et E. Enjalbert, celle-ci l'ayant vue pratiquer lors de son séjour aux Etats-Unis (n° 11).

Ils estiment eux aussi avoir en cette réaction une méthode pratique et fidèle pour le diagnostic de la mononucléose infectieuse.

Dans ce grand chapitre consacré à la réaction de Moloney, nous exposerons d'abord:

— dans un premier paragraphe, la technique avec les réactifs, l'exécution et la lecture;

— dans les trois paragraphes suivants, les statistiques de W. Moloney, de R. Mac Cready, et enfin de G. Andrieu et E. Enjalbert;

— dans le dernier paragraphe, le total des statistiques et les déductions concernant la sensibilité et la spécificité de la réaction.

I. — TECHNIQUE

A) REACTIFS:

a) *Sang complet de mouton:*

C'est là l'originalité de la méthode qui, contrairement à toutes les autres, emploie non des hématies de mouton lavées et en suspension en eau physiologique, mais du sang complet défibriné de mouton.

Moloney, pour les sérums testés dans sa série, emploie du sang de mouton défibriné. Celui-ci, s'il est recueilli stérilement, se conserve à 5° C pendant deux semaines et donne, selon son expression, des réactions « dignes de confiance ».

On peut aussi conserver les hématies de mouton en les citratant, en les phénolant et en les chlorurant (ClNa) à 50 %. De cette manière également, on obtient de bons résultats.

G. Andrieu et E. Enjalbert ont précisé certains points de technique concernant la conservation des hématies de mouton car c'est sur elles que repose toute la valeur de la réaction de Moloney.

Le sang de mouton, s'il n'est pas recueilli stérilement, ne peut être utilisé que 24 à 48 heures. Passé ce délai, les réactions sont souvent illisibles.

Aussi, préfèrent-ils utiliser le sang de mouton stérile, défibriné sur perles de verre, qui donne des réactions parfaites pendant trois semaines si on le conserve à 5° C sans souillures ultérieures.

Mais la formule la plus pratique est l'emploi de sang de mouton stérile et défibriné, conservé en le mélangeant avec de la solution d'Alsever.

Ils ont noté que les réactions faites conjointement avec les hématies conservées en solution d'Alsever et avec le sang défibriné conservé seul, étaient aussi nettes, parfois même plus nettes avec les hématies conservées sous Alsever.

La formule de la solution d'Alsever est la suivante. Pour 100:

Citrate de soude	:	0,80 g
Glucose	:	2,05 g
ClNa	:	0,42 g
Acide citrique	:	0,55 g

b) *Sérum du malade:*

Il doit être frais, non inactivé, parfaitement limpide (il est préférable de le centrifuger).

Moloney indique que l'inactivation fut employée dans un certain nombre de cas, mais que ne donnant pas de meilleurs résultats, cette opération est inutile pour la pratique.

Il indique également que les sérums positifs conservés à 4° C perdent leur pouvoir lentement, tandis que si on les conserve à — 20° l'anticorps hétérophile est bien préservé pendant très longtemps.

Cependant, G. Andrieu et E. Enjalbert ont gardé un an à 4° C un sérum positif comme témoin et l'intensité de la réaction vis-à-vis des globules de mouton est restée la même.

Par contre, ils notent qu'il est dangereux de se fier à une réaction douteuse lorsque le sérum est ancien. Ils ont en effet observé que sur 30 sérums négatifs, après un séjour d'un mois et demi à + 4° C, il y en avait trois qui donnaient de fins agglutinats d'hématies lents à apparaître.

Ils ont également constaté qu'un sérum donnant une réaction sur lame fortement positive (+ + + +) perd en partie ce pouvoir s'il est décomplémenté et n'est plus positif qu'à 1 + ou 2 + ce qui laisse indécis.

Les sérums très hémolysés ne sont pas inutilisables mais la lecture de la réaction en est plus délicate.

B) EXECUTION

Elle est très simple.

Elle consiste à mélanger sur une lame de verre 0,1 cc de sang de mouton défibriné avec 0,2 cc de sérum à tester frais et non décomplémenté.

Ce rapport de 1 à 2 entre les hématies et le sérum à tester est très important pour obtenir des résultats nettement lisibles. Une trop grande masse d'hématies gêne la lecture de la réaction.

G. Andrieu et E. Enjalbert ont adopté les proportions suivantes avec prélèvement à la pipette Pasteur: 1 goutte de sang de mouton pour 3 gouttes de sérum du malade, pour compenser le fait que, dans les flacons de conservation, les globules du sang de mouton sont plus tassés que dans le sang circulant et qu'il ne faut pas trop agiter ces dépôts d'hématies avant de s'en servir.

C) LECTURE

Elle est excessivement simple, mais il ne faut pas de demi-mesures.

Il ne faut considérer comme positifs que des grosses masses d'agglutinats d'hématies notés 3 + ou 4 + se produisant en moins de 60 secondes. Passé ce délai, la réaction est négative.

Ces agglutinats sont lus macroscopiquement, ce qui ajoute encore à la simplicité de cette réaction.

Ces agglutinats doivent être faciles à dissocier par

inclinaison légère de la goutte liquide sur laquelle ils semblent flotter. Si l'on n'observe que des granulations très fines à la limite de la visibilité, la réaction doit être considérée comme négative.

D) TEMPERATURE D'EXECUTION de la réaction:

Dans l'article de W Moloney, tous les sérums testés le sont à la température du laboratoire. En effet, les anticorps hétérophiles sont aussi actifs à 0° qu'à 37°.

Mais à 0° et à la température de la pièce, certaines maladies, notamment certains cas de cirrhoses et de syndromes hémolytiques, donnaient des réactions sur lames positives. Lorsque la réaction était pratiquée à nouveau à 37°, elle devenait négative.

Ces fausses réactions positives sont dues à des agglutinines « froides ».

Moloney considère que les affections dans lesquelles les agglutinines froides sont assez fortes pour donner une réaction sur lame positive sont tellement rares qu'il n'y a pas lieu en pratique de s'en préoccuper.

Mais Mac Cready, G. Andrieu et E. Enjalbert préfèrent éviter ces réactions gênantes en pratiquant la réaction sur une *boîte éclairante chauffante.*

II. — STATISTIQUE DE W. MOLONEY

Moloney a pratiqué sa réaction sur lame parallèlement à la méthode quantitative de Paul et Bunnell (pour laquelle le taux limite de positivité est fixé à 1/128) sur 473 sérums venant de sujets atteints de maladies variées et de sujets normaux (n° 12).

A) 1er GROUPE:

Dans ce groupe, il y avait 41 malades présentant des signes cliniques et hématologiques typiques *de mononucléose infectieuse.*

Sur ces 41 cas, 34 étaient positifs sérologiquement par la réaction de Paul et Bunnell à des titres de 1/128 ou au-dessus.

Dans ces 34 cas, la réaction sur lame était également positive. Dans 6 autres cas, le Paul et Bunnell était négatif ainsi que la réaction sur lame.

Dans un cas, alors que le Paul et Bunnell ne présentait d'agglutination qu'au 1/64, donc était négatif, la réaction sur lame était fortement positive.

On a étudié ces malades durant tout le cours de leur affection et on a noté qu'en même temps que le Paul et Bunnell tombait au-dessous de 1/128, donc devenait négatif, la réaction sur lame le devenait également.

B) 2^{me} GROUPE:

74 cas d'*affections hépatiques.*

Il y avait 53 malades présentant des cirrhoses du foie et 21 des infections hépatiques aiguës.

Dans 6 cas de cirrhose de Laënnec typique et dans 1 cas de cirrhose après infection hépatique, on observa une agglutination par la réaction sur lame alors que dans aucun de ces cas l'agglutination par le Paul et Bunnell ne dépassait une dilution de 1/8.

Mais en pratiquant la réaction sur lame à 37° elle devenait négative.

Ceci démontre qu'il ne s'agissait pas d'anticorps hétérophiles qui sont actifs à 37° aussi bien qu'à de plus basses températures.

Ces réactions positives étaient donc dues à une agglutination froide non spécifique.

Les 21 cas d'infections hépatiques aiguës étaient négatifs aussi bien par la réaction sur lame que par celle de Paul et Bunnell.

C) 3me GROUPE:

Maladies malignes.

Les sérums de 58 malades avec diverses variétés d'affections malignes: 40 cancers, 5 lymphomes malins, 7 leucémies, 6 myélomes multiples furent analysés en vue de la recherche des anticorps hétérophiles.

Dans 1 cas seulement, on a observé une réaction sur lame positive. Ceci se produisit chez un malade atteint de myélomes multiples, mais par la suite, toutes les autres réactions sur lames pratiquées chez ce malade furent négatives.

Le Paul et Bunnell, dans ce cas, fut négatif.

Les sérums des autres malades avec de multiples myélomes ne montrèrent pas d'accroissement des anticorps hétérophiles.

D) 4me GROUPE:

Il comprend 118 sérums, 95 provenant de *femmes enceintes* et 23 du *sang du cordon.*

Il n'y eut pas de réaction sur lame ou en tubes positives.

E) 5me GROUPE:

Il contient 22 sérums provenant de malades atteints de *syndromes hémolytiques* et de *femmes isoimmunisées.*

Sur 7 cas d'anémie hémolytique: aucun Paul et Bunnel positif, mais 2 réactions sur lames positives. Cependant, elles deviennent négatives à 37°. Elles étaient donc dues à une très forte auto-hémagglutinine froide.

Sur 10 femmes présentant des agglutinines anti-Rh pendant la grossesse: réaction sur lame et Paul et Bunnell négatifs.

Sur 3 femmes avec des agglutinines anti AI et une

avec des agglutinines anti B: Moloney et Paul et Bunnell négatifs aussi.

Une femme avec des agglutinines anti A2 positives à une dilution de 1/50.000 présenta une réaction sur lame positive qui ne disparut pas à 37°, tandis que le Paul et Bunnell était positif à 1/64 qui est la dilution limite.

F) 6^mo GROUPE:

Les réactions y furent pratiquées sur les sérums de malades présentant des *affections variées*. Dans ce groupe étaient compris trois cas de *maladie du sérum*.

Il sembait logique que dans ces 3 cas la réaction de Moloney fut positive du fait de la présence d'une grande quantité d'anticorps de type Forssman (puisque la réaction sur lame juge les anticorps globalement sans différencier ceux du type Forssman de ceux de la mononucléose infectieuse).

Or, aucun de ces cas ne fut positif mais les réactions ne furent faites que le premier et deuxième jour de la maladie (les malades ayant quitté l'hôpital par la suite) ce qui est beaucoup trop précoce pour qu'on puisse tenir compte de la valeur de ces résultats.

Enfin, les sérums de 110 *individus normaux* furent tous négatifs tant sur lame qu'en tubes.

En résumé:

Sur 473 sérums examinés parallèlement par les réactions de Paul et Bunnell et de Moloney on a obtenu 46 réactions sur lames positives parmi lesquelles 35 Paul et Bunnell positifs aussi.

Donc, dans 11 cas: Paul et Bunnell négatif avec Moloney positif.

Cependant, dans 9 cas sur 11, la réaction sur lame devient négative à 37°.

Dans les 2 exemples restants: l'un, une femme enceinte avec agglutinines anti A2 avait un anticorps type Forssman à 1/64 et une réaction sur lame positive à 37°. Pour l'autre, qui était atteint de myélomes multiples, la nature de l'anticorps ne fut pas déterminée.

Dans les 6 cas de mononucléose infectieuse typique cliniquement et hématologiquement donnant des réactions sérologiques négatives sur lames et en tubes, on n'a pu mettre en évidence d'anticorps bloquants malgré les multiples liquides dont on s'est servi pour diluer le sérum: albumine humaine, albumine bovine, sérum de mouton, sérum humain AB absorbé avec des hématies de mouton.

Il semble donc juste avec Moloney de conclure que les anticorps bloquants ne doivent pas être courants dans la mononucléose infectieuse et qu'ils n'interviennent pratiquement pas.

III. — STATISTIQUE DE MAC. CREADY

R. Mac Cready a étudié la réaction de Moloney sur 1.623 sérums (n° 9).

Si la réaction sur lame était positive ou si les sérums étaient envoyés pour une recherche d'anticorps hétérophiles, il pratiquait parallèlement une réaction en tubes selon la technique par centrifugation de Stuart que nous avons déjà décrite.

Le taux minimum de positivité donné d'habitude pour la réaction de Stuart est de 1/20; Mac Cready trouve ce taux de dilution un peu juste et ne considère comme positifs dans l'exposé qui va suivre que les sérums agglutinant à 1/40 ou à des dilutions plus élevées.

Sur les 1.623 sérums examinés, 913 furent testés seulement sur lames et furent négatifs.

Sur les 710 autres, on a pratiqué à la fois la réac-

tion sur lame de MOLONEY et la réaction en tubes de STUART.

152 sérums furent positifs par la réaction sur lame et 152 furent également positifs par la réaction en tubes.

Parmi les 558 restants, il y eut 549 réactions sur lames négatives et 9 positives alors que la réaction en tubes s'était montrée 558 fois négative. Il y avait donc 9 fausses positivités apparentes avec la technique de MOLONEY.

Cependant, 3 cas sur ces 9, lorsqu'on répéta 7 à 10 jours plus tard la réaction en tubes, devinrent positifs par cette méthode.

Un quatrième cas offrait un aspect clinique et hématologique typique de mononucléose infectieuse et cependant la réaction en tubes resta négative à deux reprises.

Ces 4 cas qui paraissaient faussement positifs se montrent donc au contraire en faveur de la réaction de MOLONEY.

Les trois premiers peuvent s'expliquer par l'apparition plus précoce de la réaction sur lame par rapport à la réaction en tubes.

Le quatrième, lui, ne peut recevoir d'explication si ce n'est peut-être par une plus grande sensibilité de la réaction sur lame.

Il reste donc 5 cas de fausse positivité par la réaction de MOLONEY sur 1.623 sérums (0,30 %). Cette proportion est donc minime et cette réaction apparaît donc très raisonnablement spécifique pour une réaction de présomption comme le dit MAC CREADY.

Lorsque l'on a une réaction en tubes négative (ou inférieure à 1/40) avec un sérum qui avait donné une réaction sur lame positive, une nouvelle réaction pratiquée dix jours plus tard montrera souvent le virage de la réaction en tubes qui deviendra positive.

Il est à noter que Mac Cready n'a pas eu de réaction faussement négative par la réaction sur lame comparée à la réaction de Stuart.

Mais, dans une lettre du 16 janvier 1950, Mac Cready écrit: « Nous avons maintenant deux cas où la réaction sur lame est négative tandis que la réaction en tubes est positive; ce n'est pas beaucoup, généralement c'est le contraire. Lorsqu'il n'y a pas concordance, nous répétons une semaine ou deux plus tard les réactions qui sont toutes deux positives. »

Nous ne connaissons malheureusement pas le nombre total des sérums examinés à cette date, ce qui nous empêche de tenir compte de ces derniers chiffres.

IV. — STATISTIQUE DE L'INSTITUT DE BACTERIOLOGIE ET D'HYGIENE DE LA FACULTE DE MEDECINE DE TOULOUSE

Après que E. Enjalbert ait vu pratiquer le test de Moloney à titre encore expérimental dans le laboratoire du docteur Mac Cready à Boston, l'étude de cette réaction a été poursuivie surtout du point de vue pratique depuis deux ans à l'institut de bactériologie et d'hygiène de la Faculté de Toulouse.

Ce test y est devenu habituel car, malgré sa simplicité, il est très sensible et suffisamment spécifique (n° 11).

140 sérums provenant de malades atteints d'affections diverses ont été analysés.

Parmi ces sérums, 20 étaient envoyés pour une recherche d'anticorps hétérophiles.

Sur ces 20 sérums: 5 réactions sur lames furent positives et 15 négatives. Le même résultat fut obtenu par la technique en tubes de Paul et Bunnell et de Davidsohn.

Sur 120 sérums restants, 119 ont été négatifs par la réaction sur lame quelqu'ait été le résultat de la recherche effectuée (séro-diagnostics TAB positifs: 6; séro-diagnostics Malte positifs: 14; agglutinines froides positives: 2; divers négatifs: 96).

Il est à noter que les deux cas présentant des agglutinines froides n'ont pas donné de réactions sur lames positives comme dans les cas cités par Moloney. Ceci tient à ce que ces auteurs pratiquent cette réaction sur une *boîte éclairante chauffante* qui empêche les agglutinines froides de venir troubler la réaction sur lame.

On a vu se maintenir une réaction sur lame négative à trois reprises distantes de 15 jours chez un malade atteint d'angine avec mononucléose. La réaction de Paul et Bunnell négative les trois fois, montrait cependant une agglutination importante des hématies dans l'épreuve quantitative non confirmée par les réactions après absorption des anticorps hétérophiles par les reins de cobaye et les hématies de bœuf.

Ceci semble venir rejoindre le fait observé par Moloney qui constata que dans deux maladies du sérum, les réactions sur lames (pratiquées, il est vrai, les premier et deuxième jours) ont été négatives.

Il y eut donc une seule fausse réaction positive par la réaction de Moloney.

Il s'agissait d'un malade présentant une pleurésie séro-fibrineuse sans mononucléose sanguine.

Le test de Paul et Bunnell était négatif.

Une seconde réaction sur lame fut pratiquée dix jours plus tard et se montra alors négative comme le test de contrôle de Paul et Bunnell effectué à nouveau.

Depuis la publication de cette statistique, la réaction de Moloney n'a plus été pratiquée que sur les

sérums envoyés spécialement pour une recherche d'anticorps hétérophiles.

15 sérums ont été examinés.

— 13 furent négatifs à la fois par la réaction sur lame et par la réaction en tubes;

— 1 fut positif à la fois également par le test de Moloney et par le test de Paul et Bunnell;

— Enfin, 1 sérum fut positif par la technique en tubes et négatif par la technique sur lame.

Ce seul cas de négativité de la réaction de Moloney mérite une étude plus poussée.

Il s'agit du malade R..., du docteur Lafforgue, de Montauban, atteint d'angine et de signes cliniques peu démonstratifs.

L'on pratiqua le 28-6-51 un premier examen sérologique et hématologique.

Paul et Bunnell:

H.M.:	4 4 4	4 3 2	2 1 1
H.B.:	0 0 0	0 0 0	0 0 0
R.C.:	3 3 3	3 2 1	0 0 0

donc très suspect de positivité.

Moloney: négatif.

Formule sanguine: 50 % de polynucléaires (docteur Lafforgue).

Le 2-8-51, soit approximativement un mois après, on pratiqua un nouvel examen:

Paul et Bunnel:

H.M.:	4 4 4	3 2 1	0 0 0
H.B.:	0 0 0	0 0 0	0 0 0
R.C.:	3 1 0	0 0 0	0 0 0

donc: négatif.

Moloney: négatif.

Formule sanguine: 60 % de polynucléaires (docteur Lafforgue).

Dans ce cas où à des signes cliniques et hématologiques peu nets succède une discordance entre les deux réactions sérologiques, discordance qui s'efface au second examen, il est malaisé de conclure catégoriquement.

Il semble cependant que cette discordance soit en faveur du MOLONEY étant donné la non-évidence clinique et le virage au négatif du second PAUL et BUNNELL.

TOTAL DES STATISTIQUES

Du total de toutes ces statistiques, il ressort que sur 2.251 sérums examinés, il y a eu 8 réactions faussement positives (si l'on pratique la réaction à 37° sinon le pourcentage d'erreurs est augmenté des cas faussement positifs en raison des agglutinines froides comme dans les cas cités par MOLONEY).

Sur 197 sérums positifs par le PAUL et BUNNELL il n'y a eu qu'une seule négativité du MOLONEY (cas douteux du docteur LAFFORGUE).

Cette réaction présente donc une *sensibilité* remarquable.

Ainsi, un cas cité par MOLONEY de mononucléose infectieuse typique où la réaction sur lame était positive alors que la positivité du PAUL et BUNNELL ne dépassait pas 1/64 (le 1/128 étant la dilution minima positive).

Un autre cas cité par MAC CREADY où la réaction de MOLONEY était positive alors que la réaction en tubes de STUART était négative deux fois et cependant là aussi, le malade présentait tous les signes cliniques et hématologiques de la mononucléose infectieuse.

De plus et ceci ressort encore plus nettement des

statistiques, la réaction de Moloney paraît être plus précocement positive que les réactions en tubes dans la mononucléose infectieuse comme pourrait y faire penser les trois cas de la série de Mac Cready et qui, au premier abord, avaient paru être des réactions faussement positives alors qu'elles n'étaient que précocement positives par rapport à la réaction de Stuart qui devint positive huit à dix jours plus tard.

Cet auteur en arrive même à conclure qu'une réaction sur lame positive avec une réaction en tubes négative ne doit pas être jugée faussement positive, mais qu'il faut pratiquer un nouvel examen en tubes dix jours plus tard et l'on aura souvent la surprise de le voir devenir positif à son tour.

Sa *spécificité* n'apparaît pas plus absolue que celle des techniques en tubes: 8 erreurs sur 2.251 sérums.

Ce pourcentage n'est pas énorme, néanmoins une règle en découle.

Il n'est, en général, pas nécessaire de contrôler une réaction sur lame de Moloney négative par une méthode quantitative en tubes car sur l'ensemble de tous les cas que nous connaissons, la réaction de Moloney faussement négative accompagnant une réaction de Paul et Bunnell positive est une discordance rare, mais qu'il ne faut pas complètement oublier.

Il est par contre toujours utile et même nécessaire de contrôler par une réaction de Paul et Bunnell les réactions sur lames positives.

Sa *supériorité* sur les réactions en tubes est faite, on le voit, uniquement de sa rapidité, sa simplicité d'exécution et de lecture; aussi n'est-il pas question pour la réaction de Moloney de supplanter les réactions classiques en tubes mais de les compléter.

Sur les autres réactions sur lames (Butt et Foord,

Strauss, Rappaport et Skariton) sa supériorité tient également à sa plus grande simplicité: emploi de sang total au lieu d'hématies dont la préparation est longue.

Conclusion

Avec la réaction de MOLONEY, nous sommes désormais en possession d'une réaction *rapide*, *simple*, *pratique*, *sensible et notablement spécifique* pour la recherche des anticorps hétérophiles dans la mononucléose infectieuse.

Jusqu'à présent, la complexité des autres méthodes, leur longueur, faisaient que l'on n'analysait que les sérums de sujets chez lesquels l'on soupçonnait très fortement la mononucléose infectieuse; or, étant donné la diversité et l'atypie de cette maladie, il est évident que beaucoup de mononucléoses infectieuses restaient inconnues.

C'est ainsi, par exemple, que A. DANIEL RUBENSTEIN, à Boston, s'est livré à une expérience en testant systématiquement par la réaction de PAUL et BUNNELL pour la recherche des anticorps hétérophiles 1.000 sérums expédiés pour des séro-diagnostics de la fièvre de Malte.

Il a eu la surprise de constater 13 réactions positives. Ces 13 cas étaient des mononucléoses infectieuses simulant une brucellose (n° 13). Ce qui est vrai pour les brucelloses l'est aussi pour bien d'autres affections, telles que certaines angines en apparence banales...

Le rôle de la réaction de Moloney nous apparaît donc celui d'un *examen de triage* qui permet de réserver les méthodes classiques longues et compliquées à des sérums déjà suspects (Moloney positif) de mononucléose infectieuse. Il ne faut pas lui attribuer plus de valeur absolue qu'aux réactions classiques. Comme le Paul et Bunnell, la réaction de Moloney peut se montrer négative dans de rares cas de mononucléose infectieuse évidente. Cette négativité n'est pas forcément parallèle pour les deux réactions.

Dans les rares cas où l'on obtient:

Paul et Bunnel positif
Moloney négatif

ou

Paul et Bunnel négatif
Moloney positif,

il est toujours nécessaire de se fier aux signes cliniques avec répétition des examens de laboratoire tous les dix jours, pour arriver à un diagnostic sûr.

La simplicité et la rapidité de la réaction de Moloney permettent de pratiquer la recherche des anticorps hétérophiles au moindre soupçon de mononucléose infectieuse quitte à vérifier toutes les réactions sur lames positives par des réactions en tubes; les réactions sur lames négatives écartant presque formellement le diagnostic de mononucléose infectieuse.

Il est à souhaiter que cette méthode se répande, aidant ainsi à dépister les mononucléoses frustes ou atypiques et qu'elle permette d'aider à classer le groupe si vaste et si divers des mononucléoses.

Le Président,
ANDRIEU

Vu : *Le Doyen,*
LEFEBVRE

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 8 octobre 1951

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
DOTTIN

Bibliographie

N° 1 : Sohier R. — Mononucléose infectieuse. *E.M.C.* 1950.

N° 2 : Sohier R. — La Mononucléose infectieuse. Adénolymphoïdite aiguë spécifique. 1 vol., *Masson*, édit. Paris 1943.

N° 3 : Tapie et Albarède. — Mononucléose simulant la leucémie aiguë. *Soc. Méd., Chim. Pharm.* Toulouse, juin 1944.

N° 4 : Bordet J. — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. 1 vol. *Masson*, édit. Paris 1939.

N° 5 : Demanche R. — Technique du séro-diagnostic de la syphilis, de la blennoragie, de la tuberculose, du paludisme et de la mononucléose infectieuse. 1 vol. *G. Doin*, édit. Paris 1949.

N° 6 : Strauss R. — Une réaction simple sur lame et une réaction en tubes pour la mononucléose infectieuse. *Am. J. Clin. Path.*, 1936, *6*, 546.

N° 7 : Stuart G.A. — Diagnostic procedures and reagents. 3me édition *Am. Publ. Health. Assoc.* 1950.

N° 8 : Butt E.M. et Foord A.G. — Réaction des anticorps hétérophiles dans le diagnostic de la mononucléose infectieuse. *J. Lab. and Clin. Med.* 1935, *20*, 538.

N° 9 : Mac Cready M.D. — Emploi de la réaction macroscopique sur lame pour la recherche des anticorps hétérophiles. *Rapport présenté à la conférence des directeurs de laboratoires d'Etat et de Province de la Santé Publique à New-York, congrès de la Public Health*, 24 octobre 1949.

N° 10 : Rappaport F. et Skariton M. — Une réaction rapide macroscopique pour la mononucléose infectieuse. *Am. J. Clin. Path.* 1949, *19*, 665.

N° 11 : Andrieu G. et Enjalbert E. — Une réaction sur lame pour la recherche des anticorps hétérophiles (réaction de Moloney). *Annales, Inst. Pasteur*, avril 1951, *80*, 422.

N° 12 : Moloney W. et Malzone L. — Une recherche rapide sur lame des anticorps hétérophiles dans la mononucléose infectieuse. *Blood*, 1949, *4*, 722.

N° 13 : Rubenstein A.D. et Shaw C.S. — Mononucléoses infectieuses simulant des brucelloses. *New-England, J. Med.* 1944, *231*, 111.

N° 14 : Curcier L.J.H. — Le profil leucocytaire dans la mononucléose infectieuse. *Thèse Bordeaux*, mars 1946, n° 40.

N° 15 : Harf-Fournier F. — Contribution à l'étude de la mononucléose infectieuse. *Thèse Toulouse*, 1941, n° 41.

N° 16 : Pépin C. — Un cas de mononucléose infectieuse avec réactions d'agglutination négatives. *Thèse Toulouse*, février 1947, n° 17.

Table des matières

Introduction 9

CHAPITRE PREMIER. — *Caractéristiques cliniques et hématologiques de la mononucléose infectieuse.*
1) Caractéristiques cliniques 11
2) Caractéristiques hématologiques 13

CHAPITRE II. — *Historique de la découverte des anticorps hétérophiles et principales réactions en tubes qui en découlèrent.*
1) Découverte des anticorps hétérophiles 17
2) Principales réactions en tubes 21

CHAPITRE III. — *Principales réactions sur lames pour la recherche des anticorps hétérophiles.*
1) E.M. Butt et A.G. Foord, 1936 27
2) Strauss, 1936 28
3) W. Moloney, 1949 32
4) F. Rappaport et M. Skariton, 1949 33

CHAPITRE IV. — *Réaction macroscopique sur lame de W. Moloney.*
1) Technique 38
2) Statistique de W. Moloney 41
3) Statistique de Mac Cready 45
4) Statistique de l'Institut de Bactériologie et d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Toulouse.. 47
5) Total des statistiques 50

Conclusion 52

Table des matières